

СПРАВКА ОБ ИЗДЕЛИИ

НАБОР РЕАГЕНТОВ

«Палитра HBsAg»

для иммуноферментного выявления и подтверждения
поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В

Назначение

Набор реагентов для иммуноферментного выявления и подтверждения поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В «Палитра HBsAg» разработан ООО «Биопалитра», и предназначен для выявления и подтверждения поверхностного антигена HBsAg вируса гепатита В в сыворотке и плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе. Рекомендуется для обследования доноров крови, органов, тканей человека и дифференциальной диагностики вирусных гепатитов при комплексном обследовании.

1. Принцип работы набора

На твердой фазе иммуносорбента Д1 иммобилизованы:

- поликлональные антитела к HBsAg вируса гепатита В (ЗАО «Биосан», кат. №HV-101).

Рабочий раствор биотинилированного конъюгата представляет собой:

- моноклональные антитела к HBsAg, меченые биотином, в растворе для разведения.

Рабочий раствор конъюгата СПХ представляет собой:

- концентрат стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена, в растворе для разведения.

Метод выявления HBsAg набором «Палитра HBsAg» основан на твердофазном иммуноферментном «сэндвич»-анализе (ИФА) с применением в качестве иммуносорбента поликлональных антител к HBsAg вируса гепатита В, сорбированных в лунках планшета; биотинилированного конъюгата моноклональных антител к HBsAg; и конъюгата стрептавидина с пероксидазой хрена.

Подтверждение наличия поверхностного антигена в исследуемом образце возможно при одновременном проведении прямого и конкурентного ИФА в соседних лунках одного планшета. Конкурентный ИФА основан на реакции нейтрализации HBsAg специфическими антителами, содержащимися в подтверждающем агенте.

При выявлении HBsAg на первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках иммуносорбента с конъюгатом моноклональных антител к HBsAg с биотином. При этом в исследуемом образце HBsAg происходит образование комплексов «антитело-HBsAg-конъюгат».

При подтверждении наличия HBsAg на первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы, внесенные в двух повторах, инкубируют в лунках иммуносорбента. В лунки для прямого ИФА вносят только биотинилированный конъюгат моноклональных антител к HBsAg, в лунки для

50

Далее проводят семикратную промывку промывочным раствором, чтобы удалить не связавшиеся в комплексы компоненты раствора.

Во все лунки планшета вносят рабочий раствор хромогена ТМБ (смесь реагентов Д6-1 и Д6-2) и инкубируют при 37°C в течении 20 минут. Допускается инкубирование при температуре (42 ± 1) °C в защищенном от света месте в течении 15 мин. Происходит окрашивание в лунках с положительно прореагировавшими контрольными образцами Д2-1, Д2-2 и исследуемыми образцами.

Реакцию окрашивания останавливают добавлением в лунки стоп-раствора Д8. Проводят спектрофотометрическое измерение оптической плотности в лунках планшета в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне от 620 до 700 нм. Допускается измерение ОП при одной длине волны – 450 нм.

2. Состав набора

Набор реагентов «Палитра HBsAg» включает в себя:

- Д1- планшет-иммуносорбент;
- Д2-1 – положительный контрольный образец;
- Д2-2 – слабоположительный контрольный образец;
- Д3 – отрицательный контрольный образец;
- Д4-1 – биотинилированный конъюгат;
- Д4-2 – раствор для разведения биотинилированного конъюгата;
- Д5-1 – концентрат стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена;
- Д5-2 – раствор для разведения концентрата стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена;
- Д6-1 – ТМБ, концентрат;
- Д6-2 – цитрат-фосфатный раствор с перекисью водорода для хромогена;
- Д7 – концентрат промывочного раствора 25-кратный (фосфатно-солевой буферный раствор с добавлением твина);
- Д8 - стоп-раствор.

В состав комплекта на 48 подтверждений дополнительно входит:

- Д9 – подтверждающий агент.

Дополнительно в комплект входит пленка клейкая для планшета.

3. Характеристики набора

К производителю выявлено соответствие каждой серии «Палитра HBsAg» аналитическим и диагностическим характеристикам, которые являются критериями методики контроля качества изделий для потребителей:

Чувствительность. При постановке анализа по процедуре 1 набор реагентов «Палитра HBsAg» должен выявлять как положительные все повторы разведения образца «ДС-СО-HBsAg» (ТУ 9398-05941003-2009) с концентрацией HBsAg не более 0,05 МЕ/мл.

При постановке анализа по процедуре 2 и при подтверждении наличия HBsAg набор должен выявлять как положительные все повторы разведения образца «ДС-СО-HBsAg» с концентрацией HBsAg не более 0,01 МЕ/мл.

Специфическая активность. Положительные образцы рабочей панели предприятия «РП-HBsAg(+/-)» при контроле на наборе реагентов «Палитра HBsAg» должны интерпретироваться как положительные.

Отрицательные образцы рабочей панели «РП-HBsAg(+/-)» при контроле на наборе реагентов «Палитра HBsAg» должны интерпретироваться как отрицательные. При выполнении этого условия должна быть специфичность равной 100%.

Воспроизводимость. Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость набора реагентов «Палитра HBsAg» установлена исследованием коэффициентов вариации ОП одного и того же слабоположительного контрольного образца Д2-2, полученных в результате шести одновременных повторных ИФА на трех сериях набора. Коэффициент вариации не более 10 %.

Сравнительный анализ с аналогичными наборами других производителей.

При проведении ИФА по процедуре 1 (чувствительность 0,05 МЕ/мл)

результаты по оптической плотности (ОП) образцов сыворотки крови здоровых доноров и больных гепатитом В, не содержащих и содержащих HBsAg, полученные на зарегистрированных в Росздравнадзоре наборах других производителей, сравнили с результатами «Палитра HBsAg».

Оптические плотности образцов приведены в таблице:

№ обр	«Инвитролоджик HBsAg-стрип», процедура 1 ЗАО «МБС»	«Вектогеп В - HBs-антиген-стрип», чувствительность 0,05 МЕ/мл ЗАО «Вектор Бест»	«Палитра HBsAg», процедура 1 ООО «Биопалитра»
1	0,022	0,022	0,024
2*	0,016	0,018	0,012
3	0,020	0,025	0,017
4	0,041	0,044	0,041

5	0,014	0,023	0,021
6*	0,033	0,032	0,037
7*	0,025	0,028	0,027
8	0,022	0,028	0,026
9	2,328	1,005	1,975
10	1,611	1,884	1,942
11	0,997	1,778	1,106
12*	1,713	2,359	1,804
13	0,966	1,170	0,919
14	0,522	0,588	0,492
15*	0,823	0,791	0,251
16	0,449	0,557	1,068
17	0,917	0,757	0,592
18	0,474	0,461	0,901
19	0,254	0,237	0,525
20	1,954	1,885	2,334
21*	1,542	1,161	1,657
22	0,918	1,137	0,974
23	0,779	0,878	0,968
24	1,004	0,928	1,023
ОПкрит.	<u>0,088</u>	<u>0,079</u>	<u>0,071</u>

Примечание: * - плазма крови человека. Не отмеченные – образцы сыворотки крови человека.

При проведении ИФА по процедуре 2 (чувствительность 0,01 МЕ/мл)

Результаты по ОП разведений образца СО-НВsAg «ДС-СО-НВsAg» (ТУ 9398-035-05941003-2009) и образцов рабочей панели, не содержащих и содержащих НВsAg, полученные на зарегистрированном в РФ наборах других производителей, сравнили с результатами «Палитра НВsAg».

Численные плотности приведены в таблице:

Разведение СО-НВsAg или № сыворотки	«Инвитролоджик НВsAg-стрип», процедура 2 ЗАО «МБС»	«НВsAg-ИФА - БЕСТ», чувствительность 0,01 МЕ/мл ЗАО «Вектор Бест»	«Палитра НВsAg», процедура 2 ООО «Биопалитра»
0,05 МЕ/мл)	0,255	0,233	0,195
(0,01 МЕ/мл)	0,114	0,113	0,102
(0,005 МЕ/мл)	0,084	0,073	0,081
1	0,003	0,013	0,002
2*	0,021	0,026	0,017

3	0,023	0,022	0,015
4	0,026	0,007	0,009
5	0,012	0,013	0,006
6*	0,013	0,016	0,021
7*	0,015	0,009	0,023
8	0,018	0,008	0,005
9	2,626	3,563	2,117
10	2,802	3,555	2,673
11	2,733	3,555	1,934
12*	2,564	3,529	2,332
13	2,481	3,555	2,067
14	2,134	3,555	2,414
15*	2,229	3,555	2,389
16	2,236	3,517	2,366
ОПкрит.	<u>0,101</u>	<u>0,076</u>	<u>0,089</u>

Замечание: * - плазма крови человека. Не отмеченные – образцы сыворотки крови человека.

При проведении ИФА при постановке для подтверждения наличия HBsAg

Результаты по оптической плотности (ОП) образцов сыворотки (плазмы) крови больных гепатитом В и здоровых доноров, содержащих и не содержащих HBsAg, полученные на зарегистрированных в РФ наборах других производителей, сравнили с результатами «Палитра HBsAg».

Оптические плотности и коэффициенты подавления (К под.) приведены в таблице:

Об- з-ца	«Инвитролоджик HBsAg- стрип-подтверждающий», ЗАО «МБС»		«HBsAg-подтверждающий- ИФА-Бест», ЗАО «Вектор Бест»		«Палитра HBsAg»-ПА, процедура подтверждения ООО «Биопалитра»	
	ОП прямого ИФА, о.е.	К под.,%	ОП прямого ИФА, о.е.	К под.,%	ОП прямого ИФА, о.е.	К под.,%
1	2,626	2	3,563	1	2,134	4
2	2,802	13	3,555	3	2,229	6
3	2,733	4	3,555	2	2,236	5
4	2,564	6	3,529	1	2,163	7
5*	2,481	5	3,555	1	2,117	1
6*	2,134	7	3,555	1	2,673	5
7*	2,229	8	3,555	1	1,934	7
8	2,236	6	3,517	1	2,332	8
9	2,163	2	3,561	2	2,067	2
10	2,712	13	3,556	3	2,414	3
11	2,078	4	3,525	1	2,389	1
12	2,117	6	3,529	4	2,366	4
13	2,673	5	3,542	1	2,542	1
14	1,934	7	3,555	1	3,355	6
15	2,332	8	3,555	1	2,626	5
16	2,067	6	3,516	1	2,802	7

17	2,414	2	2,820	1	2,733	6
18	2,389	13	3,455	1	2,564	6
19	2,366	4	3,555	1	2,545	5
20	2,417	6	3,523	1	2,527	7
21	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-
25*	-	-	-	-	-	-
26*	-	-	-	-	-	-
27*	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-
Пкрит.	<u>0,083</u>		<u>0,092</u>		<u>0,076</u>	

имечание: * - плазма крови человека. Не отмеченные – образцы сыворотки крови человека.

Директор ООО «Биопалитра»



Цыбин А.С.

